

11/30/13-US
PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



5

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | | |
|--|--|---|---|
| (51) Internationale Patentklassifikation 6: C12N 15/54, 15/86, 7/01, A61K 48/00 | | A2 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/18737 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. Juni 1996 (20.06.96) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE95/01817 | | (81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). | |
| (22) Internationales Anmeldedatum: 15. December 1995 (15.12.95) | | Veröffentlicht <i>Ohne internationales Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i> | |
| (30) Prioritätsdaten: P 44 44 949.6 16. December 1994 (16.12.94) DE | | | |
| (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS (DE/DE); Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE). | | | |
| (72) Erfinder; und | | | |
| (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÜRKLE, Alexander (DE/DE); Hans-Thoma-Strasse 18, D-69181 Leimen (DE). ZUR HAUSEN, Harald (DE/DE); Im Scheibling 6, D-69493 Hirschberg (DE). KÜPPER, Jan-Heiner (DE/DE); Fliederstrasse 3, D-69256 Mauer (DE). | | | |
| (74) Anwalt: HUBER, Bernard; Grafinger Strasse 2, D-81671 München (DE). | | | |

(54) Title: VECTORS AND VIRUSES FOR USE IN GENE THERAPY

(54) Bezeichnung: VEKTOREN UND VIREN ZUR GENTHERAPIE

(57) Abstract

The present invention concerns a vector which is suitable for use in gene therapy and comprises an expressible insert DNA which codes for the DNA binding region of a poly(ADP-ribose)-polymerase or for a poly(ADP-ribose)-polymerase which is at least partially catalytically inactive. The invention also concerns processes for the production of such a vector and viruses which can be used for gene therapy.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft einen zur Gentherapie geeigneten Vektor, der eine exprimierbare Insert-DNA umfasst, die für die DNA-Bindungsdomäne einer Poly(ADP-Ribose)-Polymerase oder für eine zumindest teilweise katalytisch nichtaktive Poly(ADP-Ribose)-Polymerase codiert. Ferner betrifft die Erfindung Verfahren zur Herstellung eines solchen Vektors und Viren, die zur Gentherapie geeignet sind.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | |
|----|--------------------------------|----|-----------------------------------|----|--------------------------------|
| AT | Oesterreich | GA | Gabon | MR | Mauretanien |
| AU | Australien | GB | Vereinigtes Königreich | MW | Malawi |
| BB | Barbados | GE | Georgien | NE | Niger |
| BE | Belgien | GN | Guinea | NL | Niederlande |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | NO | Norwegen |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | NZ | Neuseeland |
| BJ | Benin | IE | Irland | PL | Polen |
| BR | Brasilien | IT | Italien | PT | Portugal |
| BY | Belarus | JP | Japan | RO | Rumänien |
| CA | Kanada | KE | Kenya | RU | Russische Föderation |
| CF | Zentrale Afrikanische Republik | KG | Kirgisistan | SD | Sudan |
| CG | Kongo | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | SE | Schweden |
| CH | Schweiz | KR | Republik Korea | SI | Slowenien |
| CI | Côte d'Ivoire | KZ | Kasachstan | SK | Slowakei |
| CM | Kamerun | LI | Liechtenstein | SN | Senegal |
| CN | China | LK | Sri Lanka | TD | Tschad |
| CS | Tschechoslowakei | LU | Luxemburg | TG | Togo |
| CZ | Tschechische Republik | LV | Lettland | TJ | Tadschikistan |
| DE | Deutschland | MC | Monaco | TT | Trinidad und Tobago |
| DK | Dänemark | MD | Republik Moldau | UA | Ukraine |
| ES | Spanien | MG | Madagaskar | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| FI | Finnland | ML | Mali | UZ | Uzbekistan |
| FR | Frankreich | MN | Mongolci | VN | Vietnam |

Vektoren und Viren zur Gentherapie

Die vorliegende Erfindung betrifft Vektoren und Viren, die sich zur Gentherapie eignen, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung.

Eine gängige Tumortherapie umfaßt die operative Entfernung des Tumors und die Nachbehandlung des Patienten mittels Bestrahlung und/oder systemischer Applikation von Zytostatika. Durch die Nachbehandlung wird versucht, nicht entferntes Tumorgewebe bzw. gebildete Metastasen abzutöten.

Der Erfolg gängiger Tumortherapien ist allerdings gering. Insbesondere treten bei den nachbehandelten Patienten häufig Nebenwirkungen, wie Induktion von Zweittumoren, Schädigungen innerer Organe oder Schmerzen, auf.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel bereitzustellen, mit dem gängige Tumortherapien verbessert und insbesondere vorstehende Nebenwirkungen vermieden werden können.

Erfindungsgemäß wird dies durch einen zur Gentherapie geeigneten Vektor erreicht, der eine exprimierbare Insert-DNA umfaßt, die für die DNA-Bindungsdomäne (nachstehend mit DBD) einer Poly(ADP-Ribose)-Polymerase (nachstehend mit PARP) oder für eine zumindest teilweise katalytisch nicht-aktive PARP codiert.

Die vorliegende Erfindung beruht auf der Erkenntnis des Anmelders, daß PARP, ein zur Reparatur von DNA-Schädigungen benötigtes Enzym, durch Zugabe von DBD-Molekülen in seiner Aktivität gehemmt wird und die Reparatur von DNA-Schädigungen drastisch in ihrer Geschwindigkeit vermindert wird.

Der vorstehende Ausdruck "zur Gentherapie geeigneter Vektor" umfaßt jegliche Vektoren, die alleine oder zusammen mit anderen Mitteln in der Gentherapie verwendet werden können. Dies sind z.B. Plasmid-Vektoren und Virus-Vektoren. Von letzteren sind insbesondere solche von Adenovirus, Herpes Simplex Virus, Adeno-assoziierter Virus (nachstehend mit AAV bezeichnet), "Minute virus of mice" (nachstehend mit MVM bezeichnet) und Retroviren zu nennen. Ganz besonders bevorzugt werden Virus-Vektoren von AAV, z.B. AAV-sub201 (vgl. Samulski, R.J. et al., J. Virology 61, (1987), 3096 - 3101), von MVM z. B. pSR2 (vgl. Russell, S.J. et al., J. Virology 66, (1992), 2821 - 2828) und von Retroviren, z. B. N2 (vgl. Keller, G. et al., Nature 318, (1985), 149 - 154).

Erfindungsgemäß wird in einen vorstehenden Vektor eine Insert-DNA eingefügt, die für die DBD einer PARP oder für eine zumindest teilweise katalytisch nicht-aktiv PARP codiert. Eine vorstehende Insert-DNA kann aus einem beliebigen Organismus, z.B. dem Menschen oder dem Tier oder aus Pflanzen, stammen. Vorzugsweise wird eine Insert-DNA aus dem Menschen und besonders bevorzugt jene von Fig. 1, Position -29 bis +1127, oder eine durch ein oder mehrere Nukleotide davon unterschiedliche DNA verwendet.

Die Einfügung vorstehender Insert-DNA in den Vektor erfolgt derart, daß die Insert-DNA exprimiert werden kann. Dies kann erreicht werden, indem die Insert-DNA in eine im Vektor vorhandene Expressionseinheit in Phase inseriert wird. Dazu kann es notwendig sein, eine in der Expressionseinheit vorliegende DNA zumindest teilweise zu entfernen. Auch kann es vorteilhaft sein, Elemente der vorhandenen Expressionseinheit, wie Enhancer, Promotor oder Polyadenylierungssignale, zumindest teilweise durch andere zu ersetzen. Vorzugsweise wird in eine Expressionseinheit ein Promotor eingeführt, der spezifisch für eine Gewebe-Art ist, wodurch die Expression der unter der Kontrolle des Promotors stehenden Insert-DNA gewebespezifisch wird. Besonders bevorzugt ist ein Promotor, der in Tumorzellen aktiv ist. Ein Beispiel eines solchen Promotors ist der P4-Promotor von MVM (vgl. Russell, S.J. et al., vorstehend).

Die Expression vorstehender Insert-DNA kann ferner in einer Expressionseinheit erreicht werden, die hierzu in den Vektor eingeführt werden muß. Für diese Expressionseinheit gelten auch die vorstehenden Ausführungen.

Im Falle von Virus-Vektoren erweist es sich oftmals als günstig, die Insert-DNA in eine im Vektor vorhandene Expressionseinheit einzufügen. Die hiermit u.U. verbundene Entfernung oder Teilentfernung von in der Expressionseinheit vorliegender Virus-DNA führt dann zu einem Virus-Vektor, der in einer Virus-Funktion einen Defekt aufweist. Dieser Defekt kann als Selektionsmarker genutzt werden. Andererseits kann der Defekt, wenn nötig, durch übliche Verfahren, wie Komplementation in trans, ausgeglichen werden.

Erfindungsgemäß werden Virus-Vektoren bevorzugt, in denen die Insert-DNA so eingefügt ist, daß die Virus-Vektoren alleine nicht mehr zur Bildung der durch sie codierten Viren in der Lage sind. Beispiele solcher Virus-Vektoren sind in den Figuren 2 und 3 angegeben. Es handelt sich um AAV ^{rep}DBD, MVM ^{cap}DBD und AAV ^{rep/cap} DBD (Fig. 2). Durch übliche Komplementationsverfahren können allerdings die durch sie codierten Viren gebildet werden. Beispielsweise wird AAV ^{rep}DBD in Zellen transfiziert, die gleichzeitig mit einem das rep-Gen exprimierenden DNA-Konstrukt cotransfiziert sind. Es werden Viren erhalten. Diese eignen sich gut zur Gentherapie, da sie sich im Patienten nicht vermehren können.

Ferner weist Fig. 3 auf den bevorzugten Retrovirus DBD-Vektor hin. Durch Transfektion in eine übliche Packaging-Zelllinie wird das durch den Virus-Vektor codierte Virus erhalten. Dieses eignet sich ebenfalls gut zur Gentherapie.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind somit auch Viren, die durch vorstehende Virus-Vektoren codiert werden.

Erfindungsgemäße Vektoren und Viren zeichnen sich dadurch aus, daß sie die Reparatur von DNA-Schäden hemmen können. Sie eignen sich daher bestens, in Therapien eingesetzt zu werden, in denen Zellen abgetötet werden sollen. Ganz

besonders ist die Eignung der erfindungsgemäßen Vektoren und Viren in der Behandlung von Tumoren, insbesondere zusammen mit konventionellen Bestrahlungs- und/oder Zytostatika-Verfahren, zu sehen. Hierbei schlägt besonders zu Buche, daß sie gewebe(tumor)-spezifisch aktiv sein können. Die vorliegende Erfindung ist richtungsweisend für die gentherapeutische Behandlung schwerster Erkrankungen.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen:

Fig. 1 zeigt eine DNA, die zwischen den Positionen -29 und +1127 für die DBD einer humanen PARP codiert,
Fig. 2 zeigt die erfindungsgemäßen Vektoren AAV^{rep}-DBP, MVM^{cap}-DBD und AAV^{rep/cap}-DBD, und
Fig. 3 zeigt den erfindungsgemäßen Retrovirus-DBD-Vektor.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiele

Beispiel 1: Herstellung des erfindungsgemäßen Vektors AAV^{rep}-DBD

Es wird von dem Vektor AAV-sub201 (Samulski, R.J. et al., vorstehend) ausgegangen. Dieser Vektor wird mit den Restriktionsenzymen XbaI und BstBI gespalten. Es werden ein 3,3 kb Vektor-Fragment und ein 1,4 kb Rep-Fragment erhalten. Letzteres erstreckt sich bis an das 5'-Ende des p40-Promotors und wird verworfen. Die Enden des Vektor-Fragments werden "geglättet" In dieses wird ein Insert, P4-DBD-poly A, eingefügt, das von 5' nach 3' folgende Sequenzen umfaßt: (I) ein 259 bp BamHI/Ncol-Fragment, das den P4-Promotor enthält. Dieses Fragment stammt z.B. aus dem Plasmid pEG618 (vgl. Astell, C. et al., J. Virology 57, (1986), 656-669); (II) ein 1,73 kb EcoRI/HindIII-Fragment aus pPARP6 (vgl. Küpper, J.H. et al., J. Biol. Chem. 265 (1990), 18721-18724), das sowohl die 1,1 kb DBD als auch das 630 bp HSV-Thymidinkinase Poly-A-Signal aufweist. Es

wird der Vektor AAV ^{rep}-DBD erhalten.

Beispiel 2: Herstellung des erfindungsgemäßen Vektors MVM ^{cap}-DBD

Es wird von dem Vektor pSR2 (vgl. Russell, S.J. et al., vorstehend) ausgegangen. Dieser Vektor wird mit HindIII und BgIII gespalten. Es werden ein Vektor-Fragment und ein 1,6 kb Capsid-Fragment (II) von MVM erhalten. Letzteres Fragment wird entfernt und durch das Insert-Fragment (II) von Beispiel 1, DBD-Poly-A, ersetzt. Es wird der Vektor MVM ^{cap}-DBD erhalten.

Beispiel 3: Herstellung des erfindungsgemäßen Vektors AAV ^{rep/cap}-DBD

Es wird von dem Vektor AAV-sub201 von Beispiel 1 ausgegangen. Dieser Vektor wird mit XbaI gespalten und sämtliche AAV-Bestandteile außer den terminalen Repetitionen werden entfernt. Das restliche Fragment wird mit der intermediären Sequenz, z.B. einem 2,4 kb BamHI/BamHI-Fragment aus pCosAGy2 (vgl. Auer, B. et al., DNA 8 (1989), 575-580), welches nicht-codierende Sequenzen aus dem 7. Intron der humanen PARP aufweist, ligiert. Danach werden die Fragmente I und II aus Beispiel 1 eingefügt. Es wird der Vektor AAV ^{rep/cap}-DBD erhalten.

Beispiel 4: Herstellung des erfindungsgemäßen Retrovirus-DBD-Vektors

Es wird von dem Vektor N2 (vgl. Keller, G. et al., vorstehend) ausgegangen. Dieser Vektor wird mit EcoRI-Partialverdau 3' des Neomycin-Gen geöffnet. In den Vektor werden dann von 5' nach 3' folgende Sequenzen am 3'-Ende des Neomycin-Gens inseriert: (I) das 0,7 kb poly-A-Signal des β -Globin-Gens (z.B. das EcoRI/Sall-Fragment aus pECV; vgl. Berg, B.G.M. et al., Gene 4 (1989), 407 - 417); (II) ein 259 bp BamHI/Ncol-Fragment, das den P4-Promotor enthält (vgl. Beispiel 1, (I)); (III) ein 1,73 kb EcoRI/HindIII-Fragment aus pPARP6 (vgl. Beispiel 1, (II)). Es wird der Retrovirus-DBD-Vektor erhalten.

Beispiel 5: Hemmung der Reparatur von DNA-Schäden

Die Hemmung der Reparatur von DNA-Schäden wird anhand der Hemmung der Synthese von Poly(ADP-Ribose) gezeigt. Der erfindungsgemäße Vektor AAV[®]DBD wird durch Elektroporation in HeLa-Zellen transfiziert. Nach der Transfektion werden die Zellen auf Deckgläschen für die Mikroskopie ausgesät. Zwei Tage später werden die transfizierten Zellen auf den Deckgläschen einer genotoxischen Behandlung, z.B. Röntgenbestrahlung oder Behandlung mit alkylierenden Kanzrogenen, unterzogen. Dadurch entstehen DNA-Brüche, die zu einer Aktivierung der PARP führen, die dann Poly(ADP-Ribose) synthetisiert. Innerhalb von 30 min nach der genotoxischen Behandlung werden die HeLa-Zellen mit Trichloressigsäure fixiert und einer indirekten Immunfluoreszenz gegen Poly(ADP-Ribose) unterzogen. Es werden keine Poly(ADP-Ribose)-spezifischen Signale erhalten.

Dies zeigt, daß die in Zellen exprimierte DBD eine Hemmung der PARP verursacht.

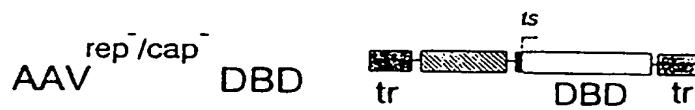
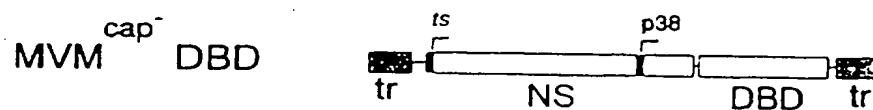
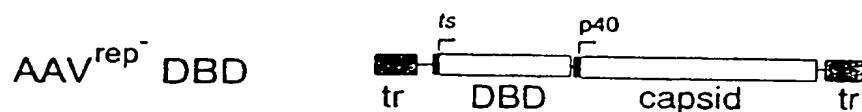
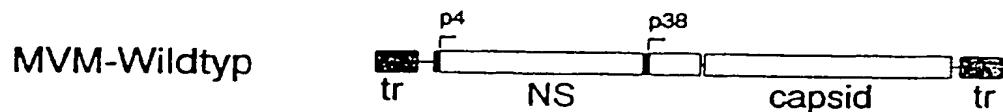
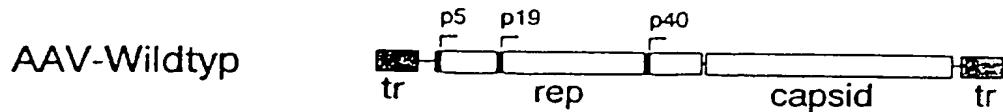
Patentansprüche

1. Vektor, geeignet zur Gentherapie, mit einer exprimierbaren Insert-DNA, die für die DNA-Bindungsdomäne einer Poly(ADP-Ribose)-Polymerase oder für eine zumindest teilweise katalytisch nicht-aktive Poly(ADP-Ribose)-Polymerase codiert.
2. Vektor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Vektor auf einem Virus-Vektor beruht.
3. Vektor nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Virus-Vektor ein Adeno-assoziierter Virus-, ein Maus-Minute Virus- oder ein Retrovirus-Vektor ist.
4. Vektor nach einem der Ansprüche 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, daß die für die DNA-Bindungsdomäne codierende DNA die Sequenz von Fig. 1 zwischen den Positionen -29 und +1127 oder eine durch ein oder mehrere Nukleotide davon unterschiedliche Sequenz aufweist.
5. Vektor nach einem der Ansprüche 1 - 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Insert-DNA in einem Tumor exprimierbar ist.
6. Verfahren zur Herstellung des Vektors nach Anspruch 1, umfassend die Einfügung der Insert-DNA nach Anspruch 1 in einen zur Gentherapie geeigneten Vektor derart, daß eine Expression der Insert-DNA durch eine bereits im Vektor vorhandene oder ebenfalls inserierte Expressionseinheit erfolgen kann.
7. Virus, codiert durch den Vektor nach Anspruch 2 oder 3.

8. Verwendung des Vektors nach einem der Ansprüche 1-5 bzw. des Virus nach Anspruch 7 zur Gentherapie, insbesondere bei Tumorerkrankungen.

-29

FIG. 1 DNA, die zwischen den Positionen -29 und +1127 für die DBD einer humanen PARP codiert.



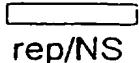
-  tr terminale Repetitionen
-  p4/5 19 38/40 AAV/MVM-Promotoren
-  ts Transformationsspezifischer Promotor
-  rep/NS Gen für die Nichtstruktur-Proteine von AAV/MVM
-  capsid Gen für die AAV/MVM-Kapsidproteine
-  DBD Gen für die DNA-Bindungsdomäne der Poly(ADP-Ribose)-Polymerase
-  intermediäre Sequenz

FIG. 2 Erfindungsgemäße Vektoren AAV^{rep-}DBD, MVM^{cap-}DBD, AAV^{rep-/cap-}DBD

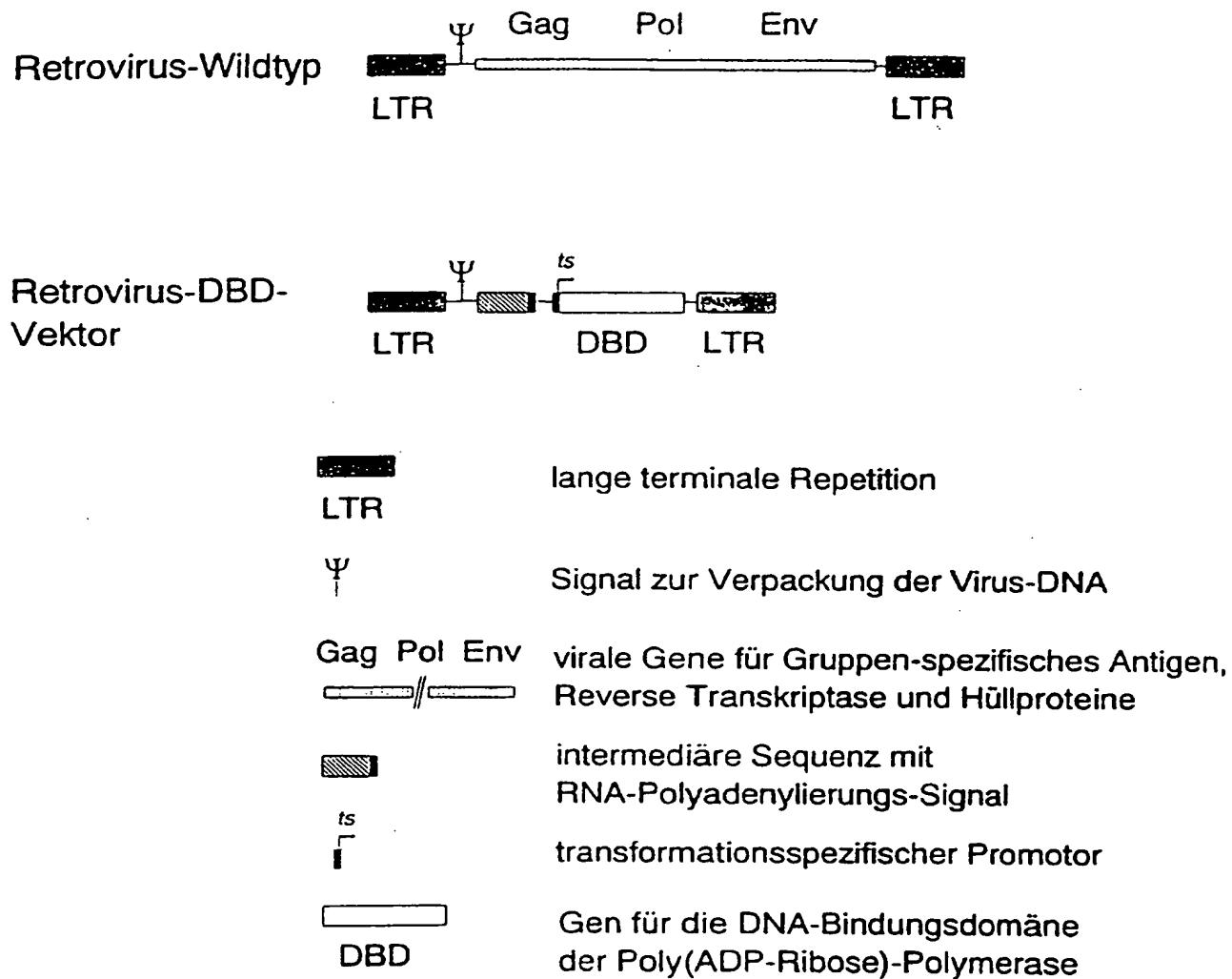


FIG. 3 Erfindungsgemäßer Retrovirus-DBD-Vektor

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 95/01817

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/54 C12N15/86 C12N7/01 A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| X | <p>J. BIOL. CHEM. (1990), 265(31), 18721-4 CODEN: JBCHA3; ISSN: 0021-9258, 1990, XP002001544</p> <p>KUEPPER, J. HEINER ET AL: "Inhibition of poly(ADP-ribosylation) by overexpressing the poly (ADP - ribose) polymerase DNA - binding domain in mammalian cells" cited in the application see abstract see page 18721, right-hand column, paragraph 3 see page 18722, left-hand column, paragraph 4 - right-hand column, paragraph 1 see page 18723, right-hand column, paragraph 2 - page 18724, left-hand column, paragraph 2 --- -/-</p> | 1,2,4,6, 7 |

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 May 1996

Date of mailing of the international search report

31.05.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Montero Lopez, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 95/01817

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| X | <p>ADP-RIBOSYLATION REACT. (1992), 72-6. EDITOR(S): POIRIER, GUY G.;MOREAU, PIERRE. PUBLISHER: SPRINGER, NEW YORK, N. Y. CODEN: 58RSAM, 1992, XP000569158</p> <p>KANG, VERONICA ET AL: "Strategies for expressing analogs of poly (ADP - ribose) polymerase in eukaryotic cells" see page 72, paragraph 1 - page 74, paragraph 1 see page 75, last paragraph - page 76, paragraph 1</p> <p>---</p> | 1,6 |
| A | <p>EP,A,0 293 193 (CLAYTON FOUNDATION FOR RESEARCH) 30 November 1988 see column 2, line 40 - line 63</p> <p>-----</p> | 1-3,5-8 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE 95/01817

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 8
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although Claim 8 is directed to a method for treatment of the human or animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PL1/DE 95/01817

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|---------|------------------|
| EP-A-293193 | 30-11-88 | AU-B- | 618749 | 09-01-92 |
| | | AU-B- | 2125388 | 21-12-88 |
| | | EP-A- | 0386002 | 12-09-90 |
| | | WO-A- | 8809383 | 01-12-88 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PL/DE 95/01817

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C12N15/54 C12N15/86 C12N7/01 A61K48/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12N A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X | <p>J. BIOL. CHEM. (1990), 265(31), 18721-4 CODEN: JBCHA3; ISSN: 0021-9258, 1990, XP002001544</p> <p>KUEPPER, J. HEINER ET AL: "Inhibition of poly(ADP-ribosylation) by overexpressing the poly (ADP - ribose) polymerase DNA - binding domain in mammalian cells" in der Anmeldung erwähnt siehe Zusammenfassung siehe Seite 18721, rechte Spalte, Absatz 3 siehe Seite 18722, linke Spalte, Absatz 4 - rechte Spalte, Absatz 1 siehe Seite 18723, rechte Spalte, Absatz 2 - Seite 18724, linke Spalte, Absatz 2 ---</p> <p style="text-align: center;">-/-</p> | 1,2,4,6, 7 |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- *' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindenscher Tägigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindenscher Tägigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. Mai 1996

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

31.05.96

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Montero Lopez, B

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 95/01817

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X | ADP-RIBOSYLATION REACT. (1992), 72-6. EDITOR(S): POIRIER, GUY G.;MOREAU, PIERRE. PUBLISHER: SPRINGER, NEW YORK, N. Y. CODEN: 58RSAM, 1992, XP000569158 KANG, VERONICA ET AL: "Strategies for expressing analogs of poly (ADP - ribose) polymerase in eukaryotic cells" siehe Seite 72, Absatz 1 - Seite 74, Absatz 1 siehe Seite 75, letzter Absatz - Seite 76, Absatz 1 --- EP,A,0 293 193 (CLAYTON FOUNDATION FOR RESEARCH) 30.November 1988 siehe Spalte 2, Zeile 40 - Zeile 63 ----- | 1,6 |
| A | | 1-3,5-8 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen

PCT/DE95/01817

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt I auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. 8

weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

Bemerkung: Obwohl der Anspruch 8 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung.

2. Ansprüche Nr.

weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3. Ansprüche Nr.

weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.

2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONAHLER RECHERCHENBERICH

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PLI/DE 95/01817

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| EP-A-293193 | 30-11-88 | AU-B- 618749 | 09-01-92 |
| | | AU-B- 2125388 | 21-12-88 |
| | | EP-A- 0386002 | 12-09-90 |
| | | WO-A- 8809383 | 01-12-88 |

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | | |
|---|--|---|--|
| <p>(51) Internationale Patentklassifikation⁶ : C12N 15/54, 15/86, 7/01, A61K 48/00</p> | | A3 | <p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/18737</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. Juni 1996 (20.06.96)</p> |
| <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE95/01817</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 15. December 1995 (15.12.95)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 44 44 949.6 16. December 1994 (16.12.94) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS (DE/DE); Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÜRKLE, Alexander (DE/DE); Hans-Thoma-Strasse 18, D-69181 Leimen (DE). ZUR HAUSEN, Harald (DE/DE); Im Scheibling 6, D-69493 Hirschberg (DE). KÜPPER, Jan-Heiner (DE/DE); Fliederstrasse 3, D-69256 Mauer (DE).</p> <p>(74) Anwalt: HUBER, Bernard; Grafinger Strasse 2, D-81671 München (DE).</p> | | <p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.</p> <p>(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchen- berichts: 29. August 1996 (29.08.96)</p> | |

(54) Title: **VECTORS AND VIRUSES FOR USE IN GENE THERAPY**

(54) Bezeichnung: **VEKTOREN UND VIREN ZUR GENTHERAPIE**

(57) Abstract

The present invention concerns a vector which is suitable for use in gene therapy and comprises an expressible insert DNA which codes for the DNA binding region of a poly(ADP-ribose)-polymerase or for a poly(ADP-ribose)-polymerase which is at least partially catalytically inactive. The invention also concerns processes for the production of such a vector and viruses which can be used for gene therapy.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft einen zur Gentherapie geeigneten Vektor, der eine exprimierbare Insert-DNA umfaßt, die für die DNA-Bindungsdomäne einer Poly(ADP-Ribose)-Polymerase oder für eine zumindest teilweise katalytisch nichtaktive Poly(ADP-Ribose)-Polymerase codiert. Ferner betrifft die Erfindung Verfahren zur Herstellung eines solchen Vektors und Viren, die zur Gentherapie geeignet sind.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | |
|----|--------------------------------|----|-----------------------------------|----|--------------------------------|
| AT | Österreich | GA | Gabon | MR | Mauretanien |
| AU | Australien | GB | Vereinigtes Königreich | MW | Malawi |
| BB | Barbados | GE | Georgien | NE | Niger |
| BE | Belgien | GN | Guinea | NL | Niederlande |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | NO | Norwegen |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | NZ | Neuseeland |
| BJ | Benin | IE | Irland | PL | Polen |
| BR | Brasilien | IT | Italien | PT | Portugal |
| BY | Belarus | JP | Japan | RO | Rumänien |
| CA | Kanada | KE | Kenya | RU | Russische Föderation |
| CF | Zentrale Afrikanische Republik | KG | Kirgisistan | SD | Sudan |
| CG | Kongo | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | SE | Schweden |
| CH | Schweiz | KR | Republik Korea | SI | Slowenien |
| CI | Côte d'Ivoire | KZ | Kasachstan | SK | Slowakei |
| CM | Kamerun | LI | Liechtenstein | SN | Senegal |
| CN | China | LK | Sri Lanka | TD | Tschad |
| CS | Tschechoslowakei | LU | Luxemburg | TG | Togo |
| CZ | Tschechische Republik | LV | Lettland | TJ | Tadschikistan |
| DE | Deutschland | MC | Monaco | TT | Trinidad und Tobago |
| DK | Dänemark | MD | Republik Moldau | UA | Ukraine |
| ES | Spanien | MG | Madagaskar | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| FI | Finnland | ML | Mali | UZ | Usbekistan |
| FR | Frankreich | MN | Mongolei | VN | Vietnam |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 95/01817A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C12N15/54 C12N15/86 C12N7/01 A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| X | J. BIOL. CHEM. (1990), 265(31), 18721-4 CODEN: JBCHA3; ISSN: 0021-9258, 1990, XP002001544 KUEPPER, J. HEINER ET AL: "Inhibition of poly(ADP-ribosylation) by overexpressing the poly (ADP - ribose) polymerase DNA - binding domain in mammalian cells" cited in the application see abstract see page 18721, right-hand column, paragraph 3 see page 18722, left-hand column, paragraph 4 - right-hand column, paragraph 1 see page 18723, right-hand column, paragraph 2 - page 18724, left-hand column, paragraph 2 --- -/- | 1,2,4,6, 7 |



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

- *&* document member of the same patent family

1

Date of the actual completion of the international search

13 May 1996

Date of mailing of the international search report

31.05.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patenttaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Montero Lopez, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PL1/DE 95/01817

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| X | <p>ADP-RIBOSYLATION REACT. (1992), 72-6. EDITOR(S): POIRIER, GUY G.;MOREAU, PIERRE. PUBLISHER: SPRINGER, NEW YORK, N. Y. CODEN: 58RSAM, 1992, XP000569158</p> <p>KANG, VERONICA ET AL: "Strategies for expressing analogs of poly (ADP - ribose) polymerase in eukaryotic cells" see page 72, paragraph 1 - page 74, paragraph 1 see page 75, last paragraph - page 76, paragraph 1</p> <p>---</p> | 1,6 |
| A | <p>EP,A,0 293 193 (CLAYTON FOUNDATION FOR RESEARCH) 30 November 1988 see column 2, line 40 - line 63</p> <p>-----</p> | 1-3,5-8 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE95/01817

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although claim 8 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out, based on the alleged effects of the compound.
2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 95/01817

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------------|
| EP-A-293193 | 30-11-88 | AU-B- 618749 | 09-01-92 |
| | | AU-B- 2125388 | 21-12-88 |
| | | EP-A- 0386002 | 12-09-90 |
| | | WO-A- 8809383 | 01-12-88 |

INTERNATIONAHLER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PLI/DE 95/01817

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 6 C12N15/54 C12N15/86 C12N7/01 A61K48/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 6 C12N A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X | J. BIOL. CHEM. (1990), 265(31), 18721-4 CODEN: JBCHA3; ISSN: 0021-9258, 1990, XP002001544 KUEPPER, J. HEINER ET AL: "Inhibition of poly(ADP-ribosylation) by overexpressing the poly (ADP - ribose) polymerase DNA - binding domain in mammalian cells" in der Anmeldung erwähnt siehe Zusammenfassung siehe Seite 18721, rechte Spalte, Absatz 3 siehe Seite 18722, linke Spalte, Absatz 4 - rechte Spalte, Absatz 1 siehe Seite 18723, rechte Spalte, Absatz 2 - Seite 18724, linke Spalte, Absatz 2 --- -/- | 1,2,4,6, 7 |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfundenscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfundenscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

'&' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

1

| | |
|---|---|
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
| 13.Mai 1996 | 31.05.96 |
| Name und Postanschrift der internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+ 31-70) 340-3016 | Bevollmächtigter Bediensteter Montero Lopez, B |

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X | ADP-RIBOSYLATION REACT. (1992), 72-6. EDITOR(S): POIRIER, GUY G.;MOREAU, PIERRE. PUBLISHER: SPRINGER, NEW YORK, N. Y. CODEN: 58RSAM, 1992, XP000569158 KANG, VERONICA ET AL: "Strategies for expressing analogs of poly (ADP - ribose) polymerase in eukaryotic cells" siehe Seite 72, Absatz 1 - Seite 74, Absatz 1 siehe Seite 75, letzter Absatz - Seite 76, Absatz 1 --- EP,A,0 293 193 (CLAYTON FOUNDATION FOR RESEARCH) 30.November 1988 siehe Spalte 2, Zeile 40 - Zeile 63 ----- | 1,6 |
| A | | 1-3,5-8 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen

PCT/DE95/01817

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt I auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. 8
weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Obwohl der Anspruch 8 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung.
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 95/01817

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|---|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| EP-A-293193 | 30-11-88 | AU-B- 618749 | 09-01-92 |
| | | AU-B- 2125388 | 21-12-88 |
| | | EP-A- 0386002 | 12-09-90 |
| | | WO-A- 8809383 | 01-12-88 |